

บทที่ 2

การสารพัดศน์

2.1 เต้าหู้

เต้าหู้ เป็นอาหารที่ชาวเอเชียรู้จักกันมานานับศตวรรษ ได้มีรายงานว่าเต้าหู้ถูกคิดค้นขึ้นในประเทศจีนตั้งแต่ 160 ปีก่อนคริสตกาล (Tsai *et al.*, 1981) จากนั้นก็เริ่มเป็นที่รู้จักกันแพร่หลายในประเทศจีนแล้วเผยแพร่ไปยังประเทศเพื่อนบ้านใกล้เคียงโดยทางพุทธศาสนา และวัฒนธรรมจีน (Shurtleff and Aoyagi, 1975)

เต้าหู้ที่วางขายในท้องตลาดในประเทศญี่ปุ่นสามารถแบ่งได้เป็น เต้าหู้โมเมน (Momen tofu) เต้าหู้อ่อน (Soft tofu) เต้าหู้หลอด (Packed tofu) เต้าหู้อะบะระเกะหรือเต้าหู้ทอด (Aburage tofu) และเต้าหู้โคริหรือเต้าหู้แห้ง (Kori tofu) (Saio, 1979) สำหรับเต้าหู้อะบะระเกะและเต้าหู้โคริจะเป็นการนำเต้าหู้สดไปแปรรูปโดยเต้าหู้อะบะระเกะจะเป็นการนำเต้าหู้สดไปทอดในน้ำมัน ส่วนเต้าหู้โคริจะเป็นการนำเต้าหู้สดไปแช่แข็งและทำแห้ง โดยสามารถอธิบายกระบวนการผลิต และคุณสมบัติของเต้าหู้ได้ดังตารางที่ 2.1

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.1 กระบวนการผลิต และคุณสมบัติของเต้าหู้ที่มีขายตามท้องตลาดในประเทศไทย

	เต้าหู้สด				เต้าหู้ที่ผ่านกระบวนการแปรรูป	
	เต้าหู้โมเมน (Momen)	เต้าหู้อ่อน (Soft)	เต้าหู้คิบู (Kinu)	เต้าหู้หลอด (Packed)	เต้าหู้อะบุระกะ (Aburage)	เต้าหู้โคริ (Kori)
อัตราส่วนน้ำต่อตัว ที่ใช้ใน	10:1	7:1	5:1	5:1	10:1	15:1
การเตรียมเมล็ดเหลือง						
ชนิดของตัวตกตะกอน	CaSO ₄	CaSO ₄	CaSO ₄ และ/หรือ GDL	CaSO ₄ และ/หรือ GDL, CaCl ₂	CaSO ₄	CaCl ₂
กระบวนการผลิต	ต้มเมล็ดเหลือง และ ตกตะกอนโปรตีนในนม ตัวเหลือง โดยมีการ กำจัดเวย์ออกทั้งหมด	ต้มเมล็ดเหลืองและ ตกตะกอนโปรตีนใน นมตัวเหลือง โดยมี การกำจัดเวย์ออก	ต้มเมล็ดเหลือง และ ตกตะกอนโปรตีนในนม ตัวเหลือง โดยไม่มีการ กำจัดเวย์ออก	ต้มเมล็ดเหลืองแล้วบรรจุลงใน ถุงพลาสติกทันทีหลังจากเติม ตัวตกตะกอน จากนั้นนำเมล็ด เหลืองไปให้ความร้อนอีกครั้ง หนึ่ง โปรตีนในนมตัวเหลืองจะ ถูกตกตะกอนโดยไม่มีการกำจัด เวย์ทิ้ง	ให้ความร้อนนมตัว เหลืองอย่างช้า ๆ และ ตกตะกอน โดยมีการ กำจัดเวย์ออกทั้งหมด จากนั้นจะนำเต้าหู้สดที่ ได้ไปทอดในน้ำมัน ได้ เป็นเต้าหู้ทอด	ต้มเมล็ดเหลืองและตกตะกอนโดย มีการกวนตลอดเวลา และกำจัด เวย์ออกทั้งหมด จากนั้นจะนำไป แช่แข็งที่ -20°C เป็นเวลาข้ามคืน แล้วเก็บที่ 0-5°C เป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ก่อนที่จะนำมาละลายน้ำ แข็งและทำแห้ง
องค์ประกอบทางเคมี						
ความชื้น (%)	86.8	88.9	89.4	90.0	44.0	8.1
ปริมาณโปรตีน (%)	6.8	5.7	5.0	4.5	18.6	50.2
ปริมาณไขมัน (%)	5.0	3.8	3.3	3.2	33.1	33.4
ปริมาณเถ้า (%)	0.6	0.6	0.6	0.6	1.4	2.8
ปริมาณ Ca (mg %)	120.0	90.0	90.0	35.0	300.0	590.0
ลักษณะเนื้อสัมผัส	แข็ง และหยาบ	ค่อนข้างแข็ง (นิ่มกว่า เต้าหู้โมเมน แต่แข็ง กว่าเต้าหู้คิบู)	นิ่ม และเนียน	นิ่ม เนียน และอ่อนนุ่มมาก	เต้าหู้สดจะมีความแข็ง มากกว่าเต้าหู้โมเมน และเมื่อนำไปทอดแล้ว จะสัมผัสลักษณะเหนียว (chewy)	เต้าหู้สดจะมีลักษณะแข็งกว่าเต้าหู้ สดของเต้าหู้อะบุระกะ และเมื่อทำ แห้งแล้วจะมีลักษณะเหมือน ฟองน้ำ(spongy) มีความยืดหยุ่น (elastic) และเหนียว (chewy)

ที่มา : SaiO (1979)

เต้าหู้ที่วางขายในท้องตลาดบ้านเรามีหลายลักษณะ เช่น เต้าหู้แข็ง เต้าหู้อ่อน เต้าหู้เหลือง เต้าหู้หลอด และเต้าหู้ทอด เป็นต้น (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527) สำหรับส่วนประกอบของเต้าหู้บางชนิดที่มีการบริโภคกันมากในประเทศไทย มีส่วนประกอบโดยประมาณแสดงดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบโดยประมาณของเต้าหู้ชนิดต่าง ๆ ที่มีบริโภคในประเทศไทย

ชนิดของเต้าหู้	ปริมาณความชื้น (%)	ปริมาณไขมัน (%)	ปริมาณโปรตีน (%)
1. เต้าหู้ขาว	74.83	5.21	11.36
2. เต้าหู้เหลือง	68.42	6.46	11.86
3. เต้าหู้หลอด	86.67	0.15	6.26
4. เต้าหู้แข็ง	10.40	26.40	58.80

ที่มา : ดัดแปลงมาจากสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร (2527)

2.2 วัตถุดิบในการผลิตเต้าหู้

ในการผลิตเต้าหู้ลักษณะต่างๆ จะมีวัตถุดิบหลักๆ คือ ถั่วเหลือง และสารตกตะกอน

2.2.1 ถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองจัดอยู่ในพืชตระกูล Leguminosae และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* (L) Memill องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลืองจะขึ้นอยู่กับลักษณะสายพันธุ์ของถั่วเหลือง

สำหรับถั่วเหลืองที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่ได้แก่พันธุ์ ส.จ.1 ส.จ.2 ส.จ.4 ส.จ.5 (ส.จ. ย่อมาจากสถานีการศึกษารวมแม่ไร่ จังหวัดเชียงใหม่) เชียงใหม่ 60 นครสวรรค์ 1 และ สุโขทัย 1 ถั่วเหลืองพันธุ์ต่างๆ มีปริมาณโปรตีน ไขมัน และน้ำหนักรีด 100 เมล็ด แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ปริมาณโปรตีน ไขมัน และน้ำหนักรีด 100 เมล็ดของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกในประเทศไทย

พันธุ์ถั่วเหลือง	ปริมาณโปรตีน (%)	ปริมาณไขมัน (%)	น้ำหนักรีด 100 เมล็ด (กรัม)
ส.จ.1	34.9	18.5	13.7
ส.จ.2	34.7	21.0	12.2
ส.จ.4	37.8	19.0	15.1
ส.จ.5	41.1	18.5	14.1
เชียงใหม่ 60	43.8	20.0	14.5
นครสวรรค์ 1	39.4	21.3	19.6
สุโขทัย 1	37.6	25.2	17.2

ที่มา : ดัดแปลงมาจากกรมส่งเสริมการเกษตร (2533)

ถั่วเหลืองที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่จะมีการปลูกกันในแถบภาคเหนือ ภาคกลาง ตอนบน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก และภาคตะวันตก การปลูกถั่วเหลืองในประเทศ

ไทยอาจแบ่งตามฤดูได้เป็น 3 ฤดูคือ ต้นฤดูฝน ปลายฤดูฝน และฤดูแล้ง การแบ่งฤดูปลูกเป็น 3 ฤดูก็เพื่อให้ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วงไม่มีฝน สะดวกต่อการเก็บเกี่ยว การปลูกถั่วเหลืองในช่วงต้นฤดูฝน คือตั้งแต่กลางเดือนเมษายน ถึงเดือนพฤษภาคม และจะแก่และเก็บเกี่ยวได้ในเดือนกรกฎาคม ซึ่งเป็นระยะที่ฝนทิ้งช่วง การปลูกในช่วงนี้เกษตรกรมักปลูกกันในแถบจังหวัดสุโขทัยโดยเฉพาะอำเภอสวรรคโลก จึงมักมีชื่อเรียกในทางการค้าว่า ถั่วเหลืองสวรรคโลก มีพันธุ์ที่ปลูกกันคือ ส.จ.1 และ ส.จ.4 ส่วนที่ปลูกปลายฤดูฝนจะเริ่มปลูกประมาณต้นเดือนสิงหาคม ในแถบภาคกลางตอนบน เช่นจังหวัดสระบุรี และลพบุรี เป็นต้นซึ่งเป็นระยะเวลาที่เกษตรกรเสร็จจากการเก็บเกี่ยวข้าวโพดต้นฤดู และยังมีฝนมากพอที่จะทำให้ปลูกถั่วเหลืองได้อีกครั้งหนึ่ง โดยใช้พันธุ์ ส.จ.2 หรือ ส.จ.4 การปลูกในฤดูนี้จะเก็บเกี่ยวได้ประมาณเดือนตุลาคม เมล็ดที่ได้จากการปลูกในฤดูนี้เป็นเมล็ดดี ขายได้ราคาดี เนื่องจากเก็บเกี่ยวเมื่อฝนหมดแล้ว และถั่วเหลืองที่ปลูกในฤดูนี้จะมีชื่อเรียกทางการค้าว่า ถั่วเหลืองพระพุทธรบาท หรือถั่วเหลืองช่องแค สำหรับถั่วเหลืองที่ปลูกในฤดูแล้งเป็นการปลูกถั่วเหลืองในเขตชลประทาน และปลูกในนาข้าวหลังการเก็บเกี่ยวข้าวแล้ว อาจเริ่มมีการปลูกตั้งแต่เดือนธันวาคมเป็นต้นไป ถึงเดือนกุมภาพันธ์ โดยใช้พันธุ์ ส.จ.2 หรือ ส.จ.4 จะปลูกในแถบภาคเหนือเป็นส่วนใหญ่ เช่นจังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดใกล้เคียง ถั่วเหลืองที่ปลูกในฤดูนี้พบว่าให้ผลผลิตสูง เมล็ดมีคุณภาพดี ชื่อทางการค้าที่เรียกกันทั่วไปคือ ถั่วเหลืองเชียงใหม่ (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527)

2.2.1.1 คุณภาพและมาตรฐานของเมล็ดถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองที่มีการซื้อขายในท้องตลาดบ้านเรา ส่วนใหญ่จะแบ่งคุณภาพออกเป็นสองเกรด ตามขนาดของเมล็ดโดยไม่คำนึงถึงพันธุ์ คือ ถั่วเหลืองชั้นหนึ่ง และถั่วเหลืองชั้นสอง โดยทั่วไปแล้วถั่วเหลืองชั้นหนึ่ง จะเป็นถั่วเหลืองที่มีคุณภาพดี มีเมล็ดขนาดใหญ่ โดยปกติจะมีอยู่ในปริมาณน้อย จึงมักใช้สำหรับบริโภคเป็นอาหาร และนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น เต้าหู้ เต้าเจี้ยว และซีอิ๊ว เป็นต้น ส่วนถั่วเหลืองชั้นสอง เป็นถั่วเหลืองที่มีคุณภาพรองลงมา มีเมล็ดขนาดเล็กกว่า และเป็นถั่วเหลืองส่วนใหญ่วที่เกษตรกรผลิตได้ คือมีประมาณร้อยละ 80 ของผลผลิตทั้งหมด ถั่วเหลืองชั้นสองนี้จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในโรงงานอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันพืช และอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เป็นส่วนใหญ่ (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527)

ข้อกำหนดคุณภาพถั่วเหลืองในการซื้อขายนั้นถั่วเหลืองชั้นหนึ่งจะอาศัยจากประสิทธิภาพ และความต้องการใช้ของอุตสาหกรรมนั้น ๆ โดยยังไม่มีข้อกำหนดที่เป็นมาตรฐาน

ซื้อขาย สำหรับถั่วเหลืองชั้นสอง ได้มีกำหนดมาตรฐานของเมล็ดถั่วเหลือง โดยกระทรวงพาณิชย์ไว้ดังต่อไปนี้

- ความชื้นไม่เกินร้อยละ 13
- ค่าของสิ่งเจือปนไม่เกินร้อยละ 3
- ค่าของกรดไม่เกินร้อยละ 5
- ปริมาณไขมันไม่ต่ำกว่าร้อยละ 17

อย่างไรก็ตามในด้านของการเลือกเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการใช้ทำเป็นอาหารนั้น สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร (2527) ได้แนะนำหลักเกณฑ์ให้พิจารณาดังต่อไปนี้

1. ค่าของความชื้น (Moisture) เมล็ดถั่วเหลืองควรมีลักษณะแห้ง หลักการสังเกตนั้นอาจทำได้โดยเวลาใช้ปากกัดเมล็ดเพื่อทำให้แตกออกเป็น 2 ซีกนั้นทำได้โดยง่าย หรือใช้มือกำเมล็ดถั่วเหลืองไว้สักครู่จะรู้สึกกร่อนขึ้น ถั่วที่เหมาะสมในการใช้งานควรมีความชื้นไม่เกิน 12% จะเป็นเมล็ดถั่วเหลืองที่แห้งพอเหมาะ

2. ลักษณะโดยทั่วไปของเมล็ด ควรมีลักษณะเมล็ดเต่งตึง ผิวไม่เหี่ยวย่น ขนาดเมล็ดใหญ่ มีเมล็ดอ่อน (สีเขียว) เมล็ดลีบเสีย หรือมีเชื้อราเกาะกันเป็นก้อนอยู่น้อยหรือไม่มีเลย เป็นถั่วเหลืองที่มีเปลือกบาง สีเปลือกเหลือง จมูกอาจเป็นสีน้ำตาลหรือสีขาว ปรากฏจากแมลงเจาะ และเนื้อถั่วมีสีเหลืองอ่อน เพราะเนื้อถั่วสีเหลืองเข้มจะเป็นถั่วที่เก็บไว้เป็นเวลานาน

3. ปรากฏจากสารพิษตกค้าง

4. อายุการเก็บ ควรเป็นถั่วเหลืองที่มีอายุการเก็บไม่เกิน 1 ปี ถ้าเก็บนานเกินไปจะทำให้คุณภาพของสารอาหารในเมล็ดถั่วเหลืองเสื่อมสภาพลงโดยเฉพาะคุณสมบัติการละลายตัวของโปรตีน และคุณภาพของไขมัน

5. คุณภาพทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลือง ถั่วเหลืองที่จะนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารควรเป็นถั่วเหลืองที่มีองค์ประกอบทางเคมีด้านสารอาหารต่าง ๆ สูง เช่นมีโปรตีนสูง ไขมันสูง หรืออย่างใดอย่างหนึ่งแล้วแต่ความเหมาะสมของการใช้

6. สิ่งเจือปนอื่น ๆ เช่นหิน ดิน ทราย ลำต้นถั่ว ฝักและใบถั่ว รวมทั้งเศษโลหะ เป็นต้น สิ่งเหล่านี้จะก่อให้เกิดการสูญเสียของเครื่องจักรได้อย่างมาก แนวทางหลีกเลี่ยงสิ่งเจือปนนั้นอาจทำได้โดยการใช้เทคโนโลยีสมัยใหม่เข้าไปช่วยในการเก็บเกี่ยว เช่นการใช้รถนวดเครื่องอบเมล็ดให้แห้ง เป็นต้น หรือก่อนการนำเมล็ดถั่วเหลืองมาใช้ก็ต้องผ่านขั้นตอนในการทำ ความสะอาดถั่วก่อน เช่น เข้าเครื่องคัดขนาด เครื่องร่อน เครื่องแยกหิน ดิน ทราย ฝุ่น เป็นต้น

7. ข้อพิจารณาอื่น ๆ เช่นกัวเหลียงนั้นควรเป็นกัวที่มีความแก่เต็มที่ของเมล็ด ทั้งนี้เพราะกัวที่ไม่แก่จัดย่อมมีความชื้นสูง ถ้าตากแดดไม่แห้งพอเมล็ดจะลึบเสียได้ง่าย อาจทำให้ผิวเหี่ยวขณะตากแห้ง หรือเก็บ อายุการเก็บไม่ได้นาน องค์ประกอบทางเคมีด้านโปรตีนมีค่าต่ำขณะที่คาร์โบไฮเดรตมีค่าสูง และไขมันเปลี่ยนแปลงสภาพได้ง่าย เป็นต้น

2.2.1.2 โปรตีนในกัวเหลียง

กัวเหลียงสะสมโปรตีนไว้ในรูปของโปรตีนบอดี (Protein Bodies) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-20 ไมครอน โปรตีนบอดีมีน้ำหนักโมเลกุล 200,000-600,000 ดาลตัน ในสภาวะธรรมชาติอาจมีการรวมกันโดยการเชื่อมด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (Disulfide linkage) โปรตีนในกัวเหลียงประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นโปรตีนประเภทกลอบูลิน (Globulins) สามารถแบ่งโปรตีนในกัวเหลียงตามคุณสมบัติในการตกตะกอน (Sedimentation properties) ได้เป็นโปรตีนชนิด 2S, 7S, 11S และ 15S โปรตีนชนิด 2S ที่สำคัญได้แก่ สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin inhibitors) ซึ่งจำเป็นต้องทำลายโดยใช้ความร้อนเพื่อให้ร่างกายสามารถนำเอาโปรตีนในกัวเหลียงไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น โปรตีนชนิด 7S ประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิดที่สำคัญคือ โปรตีนกลอบูลินซึ่งเรียกว่าคอนไกลซินิน (Conglycinin) ส่วนโปรตีนชนิด 11S จะประกอบด้วยโปรตีนกลอบูลินเพียงอย่างเดียวมีชื่อเรียกว่าไกลซินิน (Glycinin) โปรตีนทั้งสองเป็นองค์ประกอบหลักของโปรตีนในกัวเหลียง สำหรับโปรตีน 15S จะเป็นโพลีเมอร์ที่มีอยู่จำนวนน้อย (Kinsella, 1979)

โปรตีนที่มีอยู่หลักๆ ในเต้าหู้คือ โปรตีนชนิด 7S และ 11S เจลของโปรตีนชนิด 11S จะมีลักษณะเนื้อแน่น (Firm) ส่วนเจลของโปรตีนชนิด 7S จะมีลักษณะอ่อนนุ่มกว่า ดังนั้นถ้าเมล็ดกัวเหลียงมีอัตราส่วนของโปรตีน 11S ต่อ 7S ในปริมาณสูง ก็จะทำให้ได้เต้าหู้ที่มีลักษณะเนื้อแน่น และมีความแข็ง (Saio, Kamiya and Watanabe, 1969)

2.2.2 ตัวตกตะกอน

ตัวตกตะกอนที่ใช้ในการผลิตเต้าหู้แบ่งเป็น 4 ประเภทใหญ่ๆ (Shurtleff and Aoyagi, 1979) คือ

1. ตัวตกตะกอนประเภทคลอไรด์ หรือตามภาษาญี่ปุ่นเรียกว่า นิการิ (Chloride-type or Nigari-type coagulants)
2. ตัวตกตะกอนประเภทซัลเฟต (Sulfate-type coagulants)

3. กลูโคโนเดลตาแลคโตน (Glucono delta-lactone or GDL)

4. ตัวตกตะกอนประเภทกรด เอนไซม์ และตัวตกตะกอนผสม (Acid coagulants, Enzymes and Coagulant mixtures)

2.2.2.1 ตัวตกตะกอนประเภทคลอไรด์

ตัวตกตะกอนประเภทคลอไรด์นี้เหมาะสำหรับใช้ผลิตเต้าหู้แข็ง ทำให้ได้เต้าหู้ที่มีเนื้อแข็ง มีรสหอมหวาน เหมาะสำหรับใช้ทำเต้าหู้ทอด เพราะเต้าหู้ที่ได้จะมีการพองตัว ตัวตกตะกอนประเภทคลอไรด์ จะประกอบไปด้วย

2.2.2.1.1 นิการิตามธรรมชาติ (Natural nigan) หรือดีเกสโต (Bittern) ได้จากการระเหยน้ำทะเลด้วยแสงแดด จากนั้นนำไปสกัดเอาแคลเซียมซัลเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต และโซเดียมคลอไรด์ออก นิการิตจะประกอบด้วยแร่ธาตุหลายชนิดรวมกัน ที่มีอยู่เป็นองค์ประกอบหลัก คือ แมกนีเซียมคลอไรด์

2.2.2.1.2 แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) ได้มาจากการนำนิการิตมาทำให้บริสุทธิ์ โดยกระบวนการ ion exchange มีลักษณะเป็นผง หรือเป็นเกล็ดสีขาว ละลายน้ำได้ดี เมื่อละลายน้ำจะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ประมาณ 7

2.2.2.1.3 แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$) เป็นผลพลอยได้จากการผลิต soda ash เป็นตัวตกตะกอนที่ทำให้เกิดการตกตะกอนเร็วที่สุด ทำให้ได้เต้าหู้ที่มีสีขาวกว่า และอ่อนนุ่มกว่าการใช้นิการิต

2.2.2.2 ตัวตกตะกอนประเภทซัลเฟต

ตัวตกตะกอนประเภทซัลเฟตจะประกอบไปด้วย

2.2.2.2.1 แคลเซียมซัลเฟต ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$) หรือยิปซัม (Gypsum) เป็นตัวตกตะกอนที่ทำให้ได้ผลผลิตสูง ในสมัยก่อนจะได้จากยิปซัมตามธรรมชาติมาทำให้เป็นผง ใช้เป็นตัวตกตะกอน แต่ปัจจุบันแคลเซียมซัลเฟตจะเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมผลิตโซดา มีข้อจำกัดในการใช้ คือ แคลเซียมซัลเฟตจะละลายน้ำไม่ได้ เวลาใช้จะต้องทำให้เป็นสารแขวนลอยในน้ำ แล้วต้องผสมลงในนมทั่วเหลืองภายใน 30 วินาที ถ้าทิ้งไว้นานเกินไปประสิทธิภาพของสารจะลดลงอย่างรวดเร็ว แคลเซียมซัลเฟตสามารถใช้ทำเต้าหู้แข็ง และเต้าหู้อ่อน ขึ้นอยู่กับปริมาณที่ใช้ โดยใช้ในปริมาณ 2.2 % โดยน้ำหนักของเมล็ดถั่วเหลืองแห้ง เพื่อผลิตเต้าหู้แข็ง และใช้ในปริมาณ 1% โดยน้ำหนักของเมล็ดถั่วเหลืองแห้ง เพื่อผลิตเต้าหู้อ่อน

2.2.2.2.2 แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว หรือไม่มีสี มีรสขม ตัวแมกนีเซียมซัลเฟตจะมีคุณสมบัติเป็นยาถ่าย แต่เมื่อผลิตเป็นเต้าหู้แล้ว เต้าหู้ที่ได้จะไม่มีคุณสมบัติเป็นยาถ่าย เต้าหู้ที่ได้จะมีลักษณะเป็นเต้าหู้แข็ง ที่ไม่เหมาะสำหรับทำ เต้าหู้ทอด เพราะทอดแล้วไม่พอง เต้าหู้ทอดที่ได้จะมีเนื้อทึบ แน่น และแข็ง ดังนั้นจึงเหมาะสำหรับ ประกอบอาหารอื่นๆ เช่น ผัดกับถั่วงอก เป็นต้น (สมชาย ประภาวัต, 2532)

2.2.2.3 กลูโคโนเดลตาแลคโตน (Glucono delta-lactone, GDL)

เป็นตัวตกตะกอนที่นิยมใช้สำหรับผลิตเต้าหู้หลอด (packaged tofu) GDL ถูกค้นพบในปี 1898 โดยนักวิทยาศาสตร์ชื่อ Bouteux ขณะที่กำลังทำงานวิจัยเกี่ยวกับการหมัก ของนม GDL มีลักษณะเป็นผงสีขาว ไม่มีกลิ่น เตรียมได้จากกระบวนการหมักแป้งข้าวโพด มีสูตร อย่างง่ายคือ $C_6H_{10}O_6$ ละลายได้ดีในน้ำ สารละลาย GDL 1% ที่อุณหภูมิ $25^{\circ}C$ จะมี pH 3.5 หลังจากนั้น pH จะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเริ่มมีการปลดปล่อยกรดกลูโคนิก (gluconic acid) ออกมา โดยทิ้งไว้ประมาณ 17 นาที จะมี pH เท่ากับ 3 แล้ว pH จะค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ โดยจะมี pH ประมาณ 2.7 เมื่อทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง

ในการผลิตเต้าหู้หลอดจะผสม GDL กับน้ำเล็กน้อย แล้วเติมลงในถั่วเหลือง ขณะเย็น จากนั้นจึงบรรจุนมถั่วเหลืองลงในถุงพลาสติก ปิดผนึก แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ $85-90^{\circ}C$ เป็นเวลาประมาณ 30-50 นาที เมื่อได้รับความร้อน GDL จะให้กรดกลูโคนิก ซึ่งทำให้โปรตีนในถั่วเหลืองตกตะกอนลงมา และจับกันเป็นก้อนตลอดทั้งถุง วิธีการนี้จะไม่ต้องแยกเอา whey ออก ทำให้เต้าหู้ที่ได้ไม่ต้องสัมผัสกับอากาศ เครื่องมือ หรือมือของผู้ผลิต จึงช่วยป้องกันไม่ ให้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียปนเปื้อนลงมา เต้าหู้ที่ได้นี้จะมีเนื้อเนียนอ่อนนุ่ม มีสีดี มีรส เปรี้ยวเล็กน้อย และสะอาดถูกสุขลักษณะ

2.2.2.4 ตัวตกตะกอนประเภทกรด เจนไซม์ และตัวตกตะกอนผสม

2.2.2.4.1 ตัวตกตะกอนประเภทกรด ได้แก่ กรดแลคติก (lactic acid) กรด อะซิติก (acetic acid) กรดอื่นๆ ที่เป็น Food grade เช่น กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) กรดซิตริก (citric acid) กรดมาลิก (malic acid) และกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีน้ำส้มสายชู ซึ่งประกอบด้วยกรดอะซิติก 4% และน้ำผลไม้ตระกูลส้มชนิดต่างๆ เพราะ น้ำผลไม้พวกนี้จะมีกรดซิตริกเป็นองค์ประกอบอยู่มาก ตัวตกตะกอนประเภทกรดนี้สามารถตก ตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลืองได้โดยการลด pH ของนมถั่วเหลืองลงมาที่ pH 4.5 ซึ่งเป็น

isoelectric point สำหรับโปรตีนกลอบูลิน (Globulins) ในถั่วเหลือง ทำให้ประจุสุทธิบนโปรตีนเป็นศูนย์ แรงผลักรันทางไฟฟ้าของอนุภาคโปรตีนที่แขวนลอยอยู่มีค่าต่ำสุด ทำให้โปรตีนตกตะกอนลงมา (Lee and Rha, 1978)

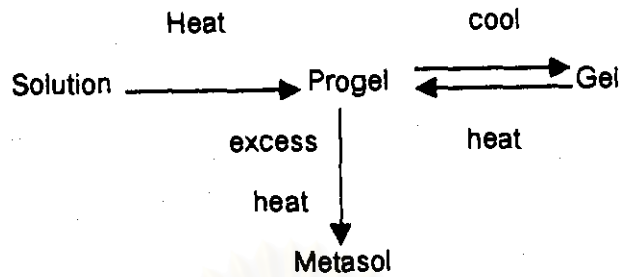
2.2.4.2 เอนไซม์ เอนไซม์ที่มีรายงานว่าสามารถตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลืองเพื่อผลิตเต้าหู้ได้ คือ เอนไซม์ปาเปน (Papain) ซึ่งเป็น proteolytic enzyme ในยางของมะละกอดิบ โดยผสมเอนไซม์ลงในนมถั่วเหลืองที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นจึงนำไปให้ความร้อนซึ่งโปรตีนก็จะตกตะกอนลงมา แต่ต้องให้ความร้อนที่อุณหภูมิไม่สูงกว่า 70°C เพราะเอนไซม์จะถูกทำลายได้

2.2.4.3 ตัวตกตะกอนผสม ในปัจจุบันจะนิยมใช้ตัวตกตะกอนผสมกันมาก เพราะใช้ง่าย ตรวจวัดได้ง่าย และเป็นการรวบรวมเอาข้อดีของตัวตกตะกอนที่รวมกันมาไว้ด้วยกัน เช่น ตัวตกตะกอนผสมระหว่างแคลเซียมซัลเฟต 55% กับ GDL 45% ใช้ทำเต้าหู้อ่อน ตัวตกตะกอนผสมของแคลเซียมซัลเฟต กับแมกนีเซียมคลอไรด์ โดยอาจจะผสมบัฟเฟอร์ (buffer) ด้วยเพื่อลดความเร็วของปฏิกิริยาของแมกนีเซียมคลอไรด์ ทำให้เต้าหู้มีลักษณะเนื้อสัมผัสดีขึ้น เป็นต้น

2.3 กลไกในการเกิดเจลโปรตีน

โปรตีนในถั่วเหลืองจะสามารถเกิดเป็นเจลได้ถ้าความหนืดของสารละลายโปรตีนเพิ่มขึ้นอย่างเพียงพอ การเกิดเจลโดยการให้ความร้อนกับสารละลายโปรตีนจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอนคือ ขั้นแรกจะเป็นการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนด้วยความร้อน ในขั้นตอนนี้โปรตีนจะสูญเสียโครงสร้างทุติยภูมิและโครงสร้างตติยภูมิ (Secondary and tertiary structure) ซึ่งในขั้นตอนนี้จะไม่สามารถผันกลับได้ (Irreversible) ส่วนขั้นตอนที่สองจะเป็นขั้นตอนที่ทำให้เกิดเจลอย่างแท้จริง ซึ่งจะเกิดขึ้นโดยการทำให้สารแขวนลอยโปรตีน (Protein suspension) เย็นตัวลง โมเลกุลของโปรตีนจะเข้ามาจับกันเป็นโครงสร้างสามมิติ และจะจับน้ำเข้ามาอยู่ในโครงสร้างสามมิตินี้ ขั้นตอนนี้จะสามารถผันกลับได้ (Reversible) (Snyder and Kwon, 1987)

Catsipoolas และ Meyer (1970) ได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดเจลโดยใช้โปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (Soy protein isolates) สามารถแสดงการเกิดเจลได้ดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.1 การเกิดเจลโปรตีนโดยความร้อนของโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง
ที่มา: Catsipoolas และ Meyer (1970)

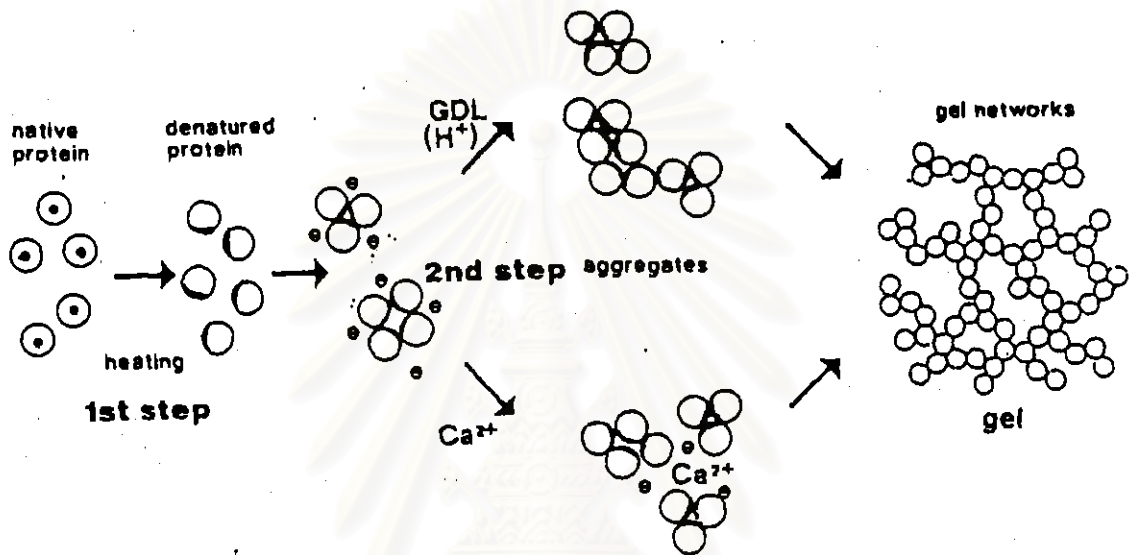
จากรูปที่ 2.1 เมื่อให้ความร้อนอย่างเพียงพอแก่สารแขวนลอยโปรตีนจนทำให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติ Solution จะเปลี่ยนเป็น Progel ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงแบบไม่สามารถผันกลับได้ ต่อมาเมื่อทำให้สารแขวนลอยโปรตีนเย็นตัวลง Progel จะเปลี่ยนเป็น Gel ถ้าให้ความร้อนแก่ Gel ก็จะสามารถเปลี่ยนกลับมาเป็น Progel อีกได้ แต่ถ้า Solution หรือ Progel ได้รับความร้อนที่สูงเกินไป ที่อุณหภูมิ 125°C จะไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็น Gel ได้ถึงแม้จะทำให้สารแขวนลอยโปรตีนเย็นลงแล้วก็ตาม และจะทำให้เกิด Metasol ภายใต้ภาวะการให้ความร้อนที่สูงเกินไปโครงสร้างของโปรตีนจะถูกเปลี่ยนแปลงไป และจะไม่สามารถเกิดเจลได้อีก การเกิดเจลโดยความร้อนนี้จะต้องใช้โปรตีนสกัดเข้มข้นอย่างน้อย 8% จึงจะเกิดเจลได้ ซึ่งความแข็งแรงของเจลจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโปรตีน ถ้าความเข้มข้นของโปรตีนสูงเจลก็จะมีค่าความแข็งแรงมากขึ้น

การเกิดเจลโปรตีนของถั่วเหลืองในอีกรูปแบบหนึ่งคือ การทำเต้าหู้ จึงมีนักวิทยาศาสตร์ สนใจทำการศึกษาถึงกลไกในการเกิดเจลโปรตีนในรูปแบบนี้หลายท่าน ได้แก่

Lee และ Rha (1978) ได้เสนอกลไกในการเกิดเจลของโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองโดยตกตะกอนด้วยแคลเซียมคลอไรด์ และตกตะกอนโดยอาศัยหลักของ Isoelectric point ของโปรตีน ด้วยการปรับ pH ของสารละลายโปรตีนจนมี pH เท่ากับ 4.5 ซึ่งเป็น Isoelectric pH (pI) ของโปรตีนถั่วเหลืองด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจางไว้ว่า เจลโปรตีนที่ตกตะกอนโดยใช้แคลเซียมคลอไรด์เกิดจากการ cross-link ระหว่างโมเลกุลโปรตีนโดยแคลเซียมไอออน โดยแคลเซียมไอออนจะจับกับประจุลบของโปรตีนด้วยพันธะไอออนิก (ionic bond) และกรดไฟติก (Phytic acid) จะทำตัวเป็นเหมือนสะพานเชื่อมในการเกิดเจลโปรตีน สำหรับ binding site ในโมเลกุลของโปรตีนนั้นยังเป็นที่โต้แย้งกันอยู่ ส่วนเจลโปรตีนที่ตกตะกอนโดยอาศัยหลักของ Isoelectric point ของโปรตีนเกิดจาก ที่ pI ประจุสุทธิของโปรตีนกลูบูลินจะมีค่าเท่ากับศูนย์

แรงผลักดันทางไฟฟ้าของอนุภาคโปรตีนที่แขวนลอยอยู่มีค่าต่ำสุด ทำให้โปรตีนตกตะกอนลงมา และโปรตีนจะจับกันด้วย Van der Waals interaction

Kohyama, Sano และ Doi (1995) ได้เสนอกลไกในการเกิดเจลโปรตีนในนมถั่วเหลือง เมื่อเติมตัวตกตะกอนลงไป ในนมถั่วเหลือง แสดงดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 กลไกการเกิดเจลโปรตีนในนมถั่วเหลืองเมื่อเติมตัวตกตะกอนลงไป สารตกตะกอนที่ใช้คือแคลเซียมซัลเฟต และกลูโคโนแลคตาแลคโตน : วงกลมหมายถึงโมเลกุลของโปรตีน และส่วนที่เป็นสีดำคือบริเวณที่เป็น hydrophobic

ที่มา: Kohyama, Sano และ Doi (1995)

จากรูปที่ 2.2 การเกิดเจลโปรตีนจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ การเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนเนื่องจากความร้อน (protein denaturation) และ การตกตะกอนของโปรตีนและการจับกันของโปรตีนที่ตกตะกอนด้วยปฏิกิริยา hydrophobic (hydrophobic coagulation)

ขั้นตอนที่หนึ่ง เมื่อโปรตีนได้รับความร้อนจากการต้มนมถั่วเหลือง โปรตีนจะเสียสภาพธรรมชาติไป ส่วนที่เป็น hydrophobic ของโปรตีน ซึ่งในสภาพธรรมชาติจะอยู่ด้านในของโครงสร้างของโปรตีนกลอบูลิน ก็จะเปลี่ยนมาอยู่ด้านนอก และเมื่อโปรตีนเสียสภาพธรรมชาติก็จะมีประจุเป็นลบ (Kohyama and Nishinari, 1993)

ขั้นตอนที่สอง โปรตีนที่เสียสภาพธรรมชาติ และมีประจุลบ จะจับกับประจุบวกของตัวตกตะกอน ทำให้โปรตีนมีสภาพเป็นกลางทางไฟฟ้า และเข้ามาจับกันด้วย hydrophobic interaction เกิดเป็นโครงข่ายตาข่าย (gel networks) ขึ้นมา

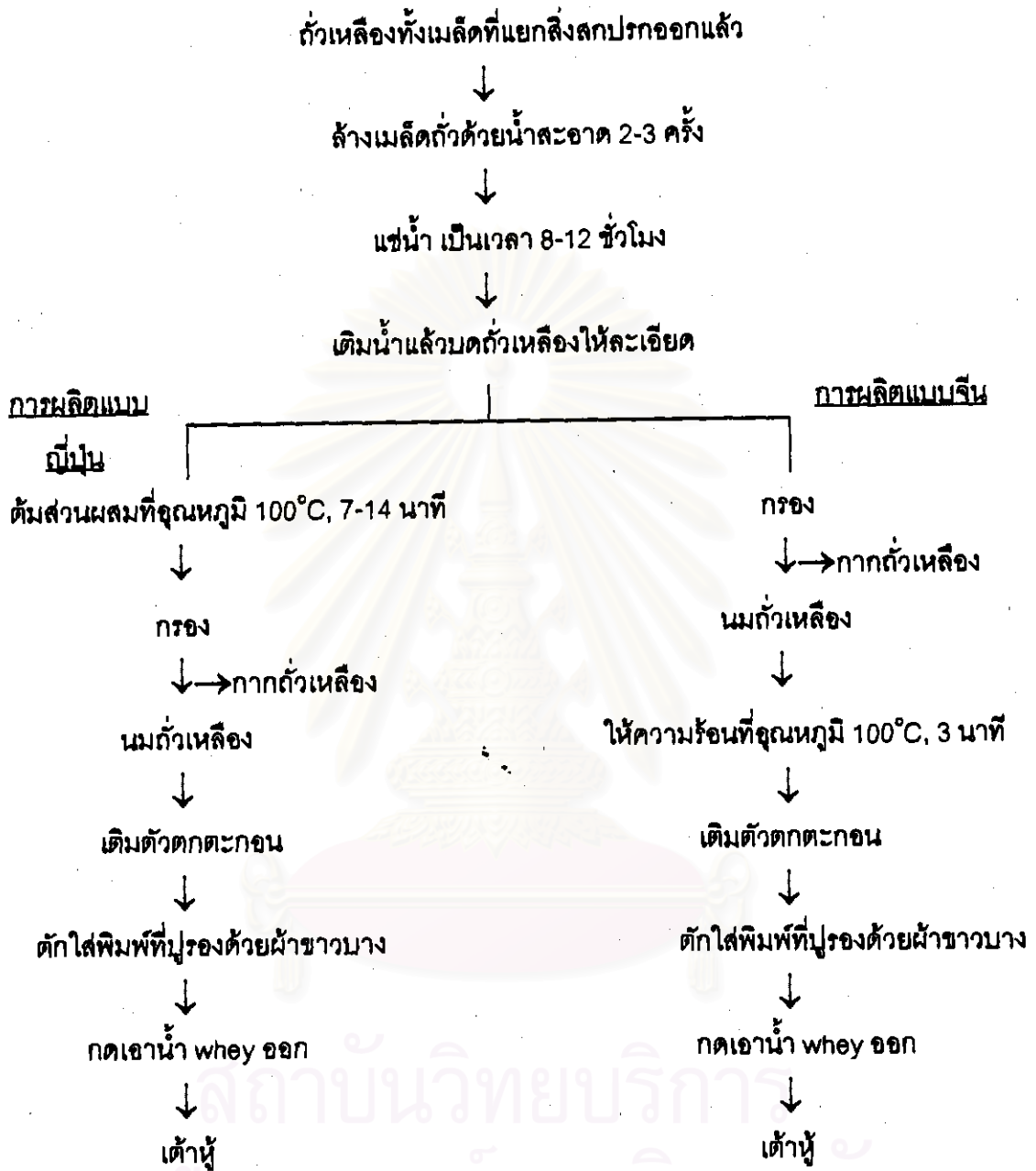
การตกตะกอนของโปรตีนนี้จะตกตะกอนพร้อมกับของแข็งอื่นๆ ในนมถั่วเหลือง เช่น ไขมัน ด้วย (Shurtleff and Aoyagi, 1979)

2.4 ขั้นตอนการผลิตเต้าหู้

ในการผลิตเต้าหู้โดยทั่วไปจะมี 2 วิธี คือ การผลิตแบบญี่ปุ่น และการผลิตแบบจีน ซึ่งทั้งสองวิธีจะมีความแตกต่างกันในช่วงของการเตรียมนมถั่วเหลือง คือ ในการผลิตแบบญี่ปุ่นจะทำการต้มส่วนผสมของถั่วเหลืองที่บดผสมกับน้ำก่อนจึงทำการกรองที่หลัง ส่วนในการผลิตแบบจีนนั้นจะทำการกรองแยกส่วนของนมถั่วเหลืองออกจากกากถั่วเหลืองก่อนจึงนำนมถั่วเหลืองมาต้ม ซึ่งขั้นตอนการผลิตเต้าหู้ทั้งสองแบบอาจกล่าวโดยสรุปได้ดังรูปที่ 2.3



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2.3 แผนภูมิแสดงขั้นตอนต่าง ๆ ในการผลิตเต้าหู้

ที่มา: Shurtleff และ Aoyagi (1979)

2.4.1 การล้าง และแช่เมล็ดถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองที่ใช้สำหรับทำเต้าหู้จะต้องเป็นถั่วเหลืองที่สะอาดไม่มีสิ่งปนเปื้อน ดังนั้นจึงต้องล้าง ทำความสะอาดให้ดีก่อน เพราะถั่วที่ไม่สะอาดจะทำให้ได้เต้าหู้ที่มีรสชาติไม่ดี มีสีหมองคล้ำ และอายุการเก็บสั้น นอกจากนี้ในระหว่างกระบวนการผลิตสิ่งปนเปื้อนจะทำให้ curd ที่ได้จะเกาะติดกับผ้ากรอง ทำให้เต้าหู้เสียรูปร่าง เศษหิน และตะปูที่ปนลงมาจะทำให้ใบมีดที่ใช้บดถั่วเสียหาย และอาจมีเศษหิน หรือเศษโลหะ ปนลงมาในส่วนผสมของถั่วเหลืองบดกับน้ำ (Shurtleff and Aoyagi, 1979)

การแช่เมล็ดถั่วเหลืองมีวัตถุประสงค์เพื่อ ทำให้โครงสร้างของเซลล์ของเมล็ดถั่วเหลืองอ่อนนุ่มลง ลดพลังงานที่ต้องใช้ในการบดถั่ว และทำให้ลิกนินอาหารต่างๆ ออกมาได้มากขึ้น เวลาที่ใช้ในการแช่ถั่วเหลืองจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำที่ใช้แช่ พันธุ์และอายุของเมล็ดถั่วเหลือง อุณหภูมิของน้ำที่ใช้ในการแช่ถั่วยิ่งเย็น เวลาที่ใช้แช่ถั่วจะยิ่งนานขึ้น โดยทั่วไปจะแช่เมล็ดถั่วเหลืองเป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ถ้าถั่วเหลืองมีอายุมากกว่า 6 เดือน หรือมีขนาดเล็ก ซึ่งมีปริมาณน้ำมันสูง จะต้องใช้เวลาในการแช่เมล็ดถั่วให้นานขึ้น (Shurtleff and Aoyagi, 1979)

ในการพิจารณาว่าถั่วเหลืองแช่น้ำได้พอดีหรือไม่ ขั้นแรกพิจารณาดูที่ผิวของน้ำที่ใช้แช่ถั่ว ถ้ามีฟองมาก แสดงว่ามีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการหมักของแบคทีเรีย ซึ่งหมายถึงใช้เวลาในการแช่ถั่วเหลืองนานเกินไป ต่อมาก็พิจารณาดูที่เปลือก (seedcoat) ของเมล็ดถั่วเหลืองที่แช่น้ำแล้ว ถ้าเมล็ดถั่วเหลืองแช่น้ำได้ดีแล้วเปลือกจะตึง เรียบ และหลุดออกจากเมล็ดถั่วได้ง่าย การทดสอบวิธีสุดท้ายคือ ให้บีบเมล็ดถั่วออกเป็นสองส่วน แล้วพิจารณาดูสีของเนื้อในเมล็ด ถ้าเป็นสีเดียวกันตลอด แสดงว่าถั่วแช่น้ำได้ดีแล้ว แต่ถ้าตรงกลางมีสีเหลืองเข้มกว่าด้านนอก แสดงว่ายังแช่น้ำไม่พอ ถั่วเหลืองที่แช่นานเกินไปก็ไม่สามารถดูดซึมน้ำได้มากกว่าที่มันสามารถดูดซึมได้ แต่จะทำให้เกิดการหมักและเกิดการเสื่อมเสียตามมา (Shurtleff and Aoyagi, 1979)

เพื่อที่จะลดเวลาที่ใช้ในการแช่เมล็ดถั่วเหลืองลงให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้นั้น พบว่าเมล็ดถั่วเหลืองดูดซึมน้ำได้เร็วที่สุด เมื่อน้ำที่ใช้แช่มีอุณหภูมิ 55°C (131°F) แต่ถ้าแช่ถั่วในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงกว่านี้ เมล็ดถั่วเหลืองจะถูกทำให้สุกเป็นบางส่วน โปรตีนในถั่วเหลืองจะเสียสภาพธรรมชาติ และปริมาณนมถั่วเหลืองที่ได้ก็จะลดลง (Shurtleff and Aoyagi, 1979)

2.4.2 การบดเมล็ดถั่วเหลืองที่แช่น้ำแล้ว

การบดถั่วมีวัตถุประสงค์เพื่อลดขนาดของเมล็ดถั่วเหลืองให้กลายเป็นชิ้นส่วนเล็กๆ ผสมกับน้ำ ก่อนที่จะบดถั่วควรล้างเมล็ดถั่วเหลืองก่อนหนึ่งหรือสองครั้ง เพื่อลดปริมาณแบคทีเรียลง นอกจากนี้ก็ควรล้างเครื่องมือที่ใช้ในการบดด้วย เพราะโมหินที่ใช้ในการบดจะเป็นที่อยู่อย่างดีแก่แบคทีเรีย (Shurtleff and Aoyagi, 1979)

ปริมาณน้ำที่เติมมีความสำคัญต่อกระบวนการผลิต โดยทั่วไปปริมาณน้ำที่เติมขณะบดถั่วและน้ำที่มีในถั่วเหลืองที่แช่น้ำแล้ว รวมถึงไอน้ำที่ใช้ในการให้ความร้อนแก่ส่วนผสมของถั่ว เมื่อคิดเป็นอัตราส่วนต่อปริมาณถั่วเหลืองแห้ง ควรจะมีอัตราส่วนเป็น 10 ต่อ 1 เพราะจะทำให้นมถั่วเหลืองที่ได้มีค่าของแข็ง และโปรตีนที่สกัดได้จากถั่วเหลืองมาสู่นมถั่วเหลือง (Solids and protein recovery) มากที่สุด คือมีปริมาณของแข็งที่สกัดได้จากถั่วเหลืองมาสู่นมถั่วเหลืองเท่ากับ 58% และมีปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากถั่วเหลืองมาสู่นมถั่วเหลืองเท่ากับ 80% (Watanabe *et al.*, 1964 quoted in Shurtleff and Aoyagi, 1979) ดังนั้นการเติมน้ำขณะบดถั่วจึงต้องพิจารณาถึงปริมาณน้ำที่มีอยู่เดิมในเมล็ดถั่วเหลืองด้วย ถ้าเติมน้ำขณะบดถั่วเหลืองมากเกินไป กากถั่วเหลืองที่ได้จะมีลักษณะหยาบ ทำให้สกัดโปรตีนได้น้อยลง นมถั่วเหลืองที่ได้จะเจือจางจึงทำให้ได้ yield ของเต้าหู้ต่ำ นอกจากนี้ยังมีเวย์ (whey) ที่ต้องกำจัดทิ้งมากด้วย (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527; Leviton, 1980) แต่ถ้าเติมน้ำขณะบดถั่วเหลืองน้อยเกินไป กากถั่วเหลืองจะละเอียดมากเกินไป และจะซุ่มน้ำไว้ได้มาก ทำให้ได้นมถั่วเหลืองน้อย นมถั่วเหลืองมีความเข้มข้นมาก เต้าหู้ที่ได้ก็จะมีลักษณะเนื้อแน่น นอกจากนี้อาจจะมีกากบางส่วนปนลงมานมถั่วเหลือง เมื่อนำไปผลิตเต้าหู้ก็จะทำให้ได้เต้าหู้ที่มีลักษณะเนื้อหยาบ เมื่อเคี้ยวจะรู้สึกสากปาก เนื่องจากมีกากถั่วเหลืองปนลงไป (Leviton, 1980)

2.4.3 การแยกนมถั่วเหลืองออกจากกากถั่วเหลือง

มีวัตถุประสงค์เพื่อแยกนมถั่วเหลืองออกจากกากถั่วเหลืองโดยการกรองผ่านผ้ากรอง หรือใช้เครื่องกรองที่ใช้แรงดันไฮดรอลิก อาจทำการแยกมากกว่าหนึ่งครั้งโดยการนำกากถั่วเหลืองที่ได้จากการกรองแยกในครั้งแรกมาผสมกับน้ำแล้วกรองแยกกากออกมา จะได้นมถั่วเหลืองที่เจือจาง จากนั้นจะนำนมถั่วเหลืองที่เจือจางนี้ไปบดผสมกับเมล็ดถั่วเหลืองในการบดครั้งใหม่ เพื่อให้ได้นมถั่วเหลืองปริมาณมากขึ้น และได้ปริมาณของแข็ง และโปรตีนในนมถั่วเหลืองมากขึ้น (Shurtleff and Aoyagi, 1979)

2.4.4 การให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลือง

การให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลืองที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม มีวัตถุประสงค์เพื่อ

1. ทำลายสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินในถั่วเหลือง (soybean trypsin inhibitors)
2. ปรับปรุงกลิ่นรส โดยการลดกลิ่นถั่วดิบ (beany flavors)
3. ปรับปรุงอายุการเก็บของเต้าหู้ให้นานขึ้น โดยการทำลายแบคทีเรียในนมถั่วเหลือง
4. ทำให้โปรตีนในนมถั่วเหลืองเสียสภาพธรรมชาติ (denature) และอยู่ในสภาพที่พร้อมที่จะจับกับตัวตกตะกอน

อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลืองคือ อุณหภูมิ 100°C นาน 7-14 นาที (Shurtleff and Aoyagi, 1979) ซึ่งเป็นเวลาที่นานเพียงพอที่จะทำลายสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินปริมาณ 80% ในนมถั่วเหลือง (Van Buren *et al.*, 1964) และการต้มนมถั่วเหลืองเป็นเวลานาน 10-15 นาที จะทำให้นมถั่วเหลืองมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดีที่สุด คือทำให้ร่างกายสามารถย่อยโปรตีนในนมถั่วเหลืองได้ดีที่สุด ในขณะที่กรดอะมิโนจำเป็นถูกทำลายลงน้อยที่สุด (Wang and Hesseltine, 1982) การให้ความร้อนมากเกินไป (overcooking) จะทำให้เกิดผลเสียหลายประการดังนี้

1. เป็นการทำลายกรดอะมิโนพวกซิสตีน (Cystine) และไลซีน (Lysine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acids) ทำให้คุณภาพของโปรตีนในเต้าหู้ลดลง
2. ทำให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ เช่น กลิ่นกำมะถัน และกลิ่นถั่วไหม้
3. ทำให้โปรตีนถูกย่อยได้ยากขึ้น และ
4. ทำให้เต้าหู้เกิดสีคล้ำ

2.4.5 การตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลือง

การตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลืองจะทำโดยลดอุณหภูมิในนมถั่วเหลืองลงจนถึงอุณหภูมิที่เหมาะสม แล้วจึงเติมตัวตกตะกอนลงไปเพื่อจับกับโปรตีนในนมถั่วเหลืองและตกตะกอนลงมา ในขณะที่เติมตัวตกตะกอนจะต้องกวนนมถั่วเหลืองด้วยอัตราเร็วที่เหมาะสมด้วยเพื่อป้องกันการทำลาย curd ที่เกิดขึ้น ดังนั้นในขั้นนี้ปัจจัยที่สำคัญได้แก่ อุณหภูมิในการตกตะกอนที่เหมาะสม ชนิดและปริมาณตัวตกตะกอนที่เหมาะสม และอัตราเร็วในการกวนนมถั่วเหลืองขณะเติมตัวตกตะกอนที่เหมาะสม

2.4.5.1 อุณหภูมิในการตกตะกอนที่เหมาะสม

อุณหภูมิที่เหมาะสมจะขึ้นกับชนิดของตัวตกตะกอนที่ใช้ เช่น

- แคลเซียมซัลเฟต ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) จะมีอุณหภูมิในการตกตะกอนที่เหมาะสมที่ $70 - 75^\circ\text{C}$
- แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) จะมีอุณหภูมิในการตกตะกอนที่เหมาะสมที่ $70 - 75^\circ\text{C}$
- แคลเซียมคลอไรด์ ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) จะมีอุณหภูมิในการตกตะกอนที่เหมาะสมที่ $78 - 85^\circ\text{C}$
- แมกนีเซียมคลอไรด์ ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) จะมีอุณหภูมิตกตะกอนที่เหมาะสมที่ $78 - 85^\circ\text{C}$
- น้ำมะนาว จะมีอุณหภูมิตกตะกอนที่เหมาะสมที่ $80 - 90^\circ\text{C}$
- น้ำส้มสายชู จะมีอุณหภูมิตกตะกอนที่เหมาะสมที่ $80 - 90^\circ\text{C}$ เป็นต้น

(Shurtleff and Aoyagi, 1979)

Watanabe และคณะ (1964 quoted in Shurtleff and Aoyagi, 1979)

ศึกษาผลของอุณหภูมิในการตกตะกอนที่เหมาะสมโดยใช้แคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.012N เป็นตัวตกตะกอน โดยทำการแปรอุณหภูมิในการตกตะกอนในช่วง $40-70^\circ\text{C}$ พบว่า ยิ่งอุณหภูมิของนมถั่วเหลืองในขณะเติมตัวตกตะกอนสูง เวลาที่ใช้ในการตกตะกอนจะยิ่งสั้นลง แต่ผู้ที่ได้ยังมีความแน่นเนื้อมากขึ้น แต่ปริมาณของเต้าหู้ที่ได้จะน้อยลง ทั้งนี้เนื่องจาก อุณหภูมิยิ่งสูงจะยิ่งขับน้ำออกจากโครงสร้างโปรตีนได้มาก ทำให้ curd ที่เกิดเมื่อถูกกดทับเกาะติดกันแน่นขึ้น มีน้ำแทรกอยู่น้อยลง จึงทำให้ได้เต้าหู้ที่มีปริมาตรต่ำ และมีเนื้อสัมผัสแน่น แข็งขึ้น สำหรับปริมาณของแข็งในเต้าหู้ พบว่าจะมีปริมาณใกล้เคียงกันไม่ว่าอุณหภูมิในการตกตะกอนจะเปลี่ยนแปลงไปอย่างไร

Beddows และ Wong (1987) ทำการทดลองโดยใช้ถั่วเหลืองผสมระหว่างพันธุ์พื้นเมืองของสหรัฐอเมริกา กับพันธุ์พื้นเมืองของแคนาดา แช่น้ำเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20°C ทำการเตรียมนมถั่วเหลืองด้วยอัตราส่วนของน้ำต่อถั่วเท่ากับ 10:1 เลือกใช้วิธีการกรองส่วนผสมของถั่วกับน้ำขณะเย็น แล้วจึงให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 100°C นาน 3 นาที แล้วลดอุณหภูมิลงมาที่อุณหภูมิต่างๆ ในช่วง $50-90^\circ\text{C}$ แล้วจึงเติมแคลเซียมซัลเฟตความเข้มข้น 11.75 mM แล้วกวนนมถั่วเหลืองด้วยความเร็ว 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นขึ้นรูปเป็นเต้าหู้โดยเทลงในพิมพ์ที่ปูรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วกดทับพิมพ์ด้วยความดัน 3.06 g/cm^2 จนไม่มีน้ำ whey ไหลออกมาอีก ศึกษาผลของอุณหภูมิในการตกตะกอนที่มีต่อเต้าหู้ที่ผลิตได้ พบว่า ปริมาณเต้าหู้ (คิดในรูปน้ำหนักเต้าหู้เปียก ต่อน้ำหนักเมล็ดถั่วเหลือง) และปริมาณน้ำในเต้าหู้จะลดลงเมื่ออุณหภูมิของนมถั่วเหลืองขณะเติมตัวตกตะกอนสูงขึ้น และเต้าหู้ที่ได้มีลักษณะเนื้อแน่น แข็งขึ้นด้วย เมื่อพิจารณาร่วมกับลักษณะปรากฏพบว่า เต้าหู้ที่ได้จากการเติมตัวตกตะกอนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 70°C จะมีลักษณะอ่อนนุ่ม และมีน้ำมาก ส่วนเต้าหู้ที่ได้จากการเติมตัวตกตะกอน

ที่อุณหภูมิในช่วง 70-80°C ลักษณะเนื้อสัมผัสของเต้าหู้จะดี เรียบ แต่ที่อุณหภูมิขณะเติมตัวตกตะกอนสูงกว่านี้จะได้ปริมาณเต้าหู้ลดลง และเต้าหู้จะมีลักษณะเนื้อหยาบ ไม่เรียบ และแข็ง เนื่องจากที่อุณหภูมิสูงโปรตีน 7S จะเกิดการรวมกันอย่างรวดเร็วแล้วตกตะกอนลงมา และลดปริมาณน้ำที่มีอยู่ในเต้าหู้ ทำให้ปริมาณเต้าหู้ที่ได้น้อยลงด้วย และที่อุณหภูมิขณะเติมตัวตกตะกอนในช่วง 70-80°C พบว่าเต้าหู้ที่ได้จะมีปริมาณของแข็งและปริมาณโปรตีนคิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับปริมาณของแข็งและปริมาณโปรตีนที่พบในเมล็ดถั่วเหลืองเริ่มต้น (% solids and protein conversion, beans to tofu) สูงสุด ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการใช้แคลเซียมซัลเฟตเป็นตัวตกตะกอนเพื่อผลิตเต้าหู้ คือ อุณหภูมิในช่วง 70-80°C และสามารถสรุปได้ว่ายังใช้อุณหภูมิในการตกตะกอนสูงเต้าหู้ที่ได้จะมีลักษณะแข็งขึ้น

2.4.5.2 ชนิดและปริมาณตัวตกตะกอนที่เหมาะสม

ปริมาณตัวตกตะกอนที่ใช้จะแตกต่างกันไปตามชนิดของตัวตกตะกอน และลักษณะของเต้าหู้ที่ต้องการ Watanabe และคณะ (1964 quoted in Shurtleff and Aoyagi, 1979) ทำการทดลองผลิตเต้าหู้แข็งโดยใช้แคลเซียมคลอไรด์ เป็นตัวตกตะกอน พบว่าความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมในการผลิตเต้าหู้แข็งคือ 0.011 N โดยจะทำให้ได้เต้าหู้แข็งที่มีปริมาณโปรตีนสูง มีลักษณะเนื้อสัมผัสนุ่มพอเหมาะ ถ้าใช้ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ต่ำกว่านี้ เต้าหู้แข็งจะมีปริมาณโปรตีนต่ำ มีน้ำมาก แต่ถ้าใช้ความเข้มข้นสูงกว่านี้เต้าหู้แข็งจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสแน่น แข็งขึ้น เนื่องจากมีน้ำอยู่น้อย แต่ปริมาณโปรตีนไม่สูงขึ้น อีกทั้งจะทำให้เต้าหู้แข็งที่ได้มีรสฝาด

Saio (1979) ทำการทดลองผลิตเต้าหู้โดยใช้แคลเซียมซัลเฟตและแคลเซียมคลอไรด์ เป็นตัวตกตะกอน พบว่าแคลเซียมคลอไรด์จะละลายน้ำได้ดีกว่า และจะทำปฏิกิริยากับโปรตีนในนมถั่วเหลืองได้เร็วกว่าแคลเซียมซัลเฟต สำหรับช่วงความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมที่จะทำให้ได้เต้าหู้ที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดีจะมีช่วงแคบกว่าแคลเซียมซัลเฟต โดยช่วงความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสมคือ 0.013-0.015 N ส่วนช่วงความเข้มข้นของแคลเซียมซัลเฟตที่เหมาะสมคือ 0.015-0.022 N และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเกลือแคลเซียมเพิ่มมากขึ้นเต้าหู้ก็จะมี ความแข็งแรงมากขึ้น และการใช้แคลเซียมคลอไรด์เป็นตัวตกตะกอนจะทำให้เต้าหู้มีลักษณะเนื้อสัมผัสแข็งกว่าการใช้แคลเซียมซัลเฟตเป็นตัวตกตะกอน

deMan, deMan และ Gupta (1986) ได้ทำการทดลองผลิตเต้าหู้โดยใช้ตัวตกตะกอนที่แตกต่างกัน พบว่าเต้าหู้ที่ได้จากการใช้แคลเซียมซัลเฟต 0.75% โดยน้ำหนักของนมถั่ว

เหลืองเป็นตัวตกตะกอนจะมีปริมาณ yield สูง มีเนื้อสัมผัสนิ่มเนียน มีโครงสร้างที่ละเอียดและเป็นระเบียบ (fine and uniform structure) สำหรับเตาหุ้ที่ได้จากการใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.15% และแมกนีเซียมคลอไรด์ 0.3% โดยน้ำหนักของนมถั่วเหลืองเป็นตัวตกตะกอนจะมีปริมาณ yield ต่ำ มีลักษณะเนื้อสัมผัสแข็ง เนื้อหยาบเป็นเม็ด ๆ มีโครงสร้างที่ไม่เป็นระเบียบ ส่วนเตาหุ้ที่ได้จากการใช้แมกนีเซียมซัลเฟต 0.3% โดยน้ำหนักของนมถั่วเหลืองเป็นตัวตกตะกอนจะมีลักษณะเนื้อสัมผัสค่อนข้างแข็ง มีโครงสร้างที่เป็นระเบียบมากกว่าเตาหุ้ที่ใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.15% และแมกนีเซียมคลอไรด์ 0.3% โดยน้ำหนักของนมถั่วเหลืองเป็นตัวตกตะกอน

Beddows และ Wong (1987) ทำการทดลองผลิตเตาหุ้ร้อนโดยใช้แคลเซียมซัลเฟต เป็นตัวตกตะกอน พบว่าความเข้มข้นของแคลเซียมซัลเฟตที่เหมาะสมในการผลิตเตาหุ้ร้อนคือ 9-10 mM โดยเตาหุ้ร้อนที่ได้จะมีลักษณะปรากฏที่ดีที่สุด เนื้อสัมผัสนิ่ม เนียน สวย ไม่อ่อนนุ่มและหยาบจนเกินไป และถ้าใช้ความเข้มข้นของแคลเซียมซัลเฟตสูงกว่านี้เตาหุ้ร้อนที่ได้จะมีเนื้อหยาบ และเหนียวเหมือนยาง

จะเห็นได้ว่าชนิดและปริมาณตัวตกตะกอนจะมีผลต่อปริมาณ yield และคุณภาพของเตาหุ้ที่ได้ ถ้าใช้ปริมาณตัวตกตะกอนน้อยเกินไปเตาหุ้จะมีปริมาณโปรตีนต่ำ มีน้ำมาก และมีลักษณะเนื้อสัมผัสนิ่ม แต่ถ้าใช้ปริมาณตัวตกตะกอนมากเกินไปเตาหุ้ที่ได้จะมีน้ำน้อย มีลักษณะเนื้อสัมผัสแน่น แข็ง โดยที่ไม่ทำให้มีปริมาณโปรตีนสูงขึ้นกว่าการใช้ปริมาณตัวตกตะกอนที่เหมาะสม และจะทำให้เตาหุ้มีรสไม่ดีอันเนื่องมาจากรสฝาดของตัวตกตะกอน

2.4.5.3 อัตราเร็วในการกวนนมถั่วเหลืองขณะเติมตัวตกตะกอนที่เหมาะสม

Watanabe และคณะ (1964 quoted in Shurtleff and Aoyagi, 1979) ได้รายงานว่าถ้าใช้อัตราเร็วในการกวนนมถั่วเหลืองขณะเติมสารตกตะกอนมากขึ้น เตาหุ้ที่ได้จะมีปริมาณต่ำลง เนื้อสัมผัสแน่น แข็งขึ้น เพราะมีน้ำในเตาหุ้น้อยลง

Beddows และ Wong (1987) รายงานว่าอัตราเร็วในการกวนนมถั่วเหลืองขณะเติมแคลเซียมซัลเฟตที่ใช้เป็นตัวตกตะกอนที่เหมาะสมคือ 250 รอบต่อนาที โดยพบว่าถ้าใช้อัตราเร็วในการกวนนมถั่วเหลืองขณะเติมตัวตกตะกอนน้อยเกินไป ตัวตกตะกอนจะกระจายตัวไม่ทั่วถึง ทำให้โปรตีนที่ละลายอยู่บางส่วนไม่ถูกตกตะกอนลงมา และโปรตีนบางส่วนโดยเฉพาะโปรตีนที่ละลายได้ และโปรตีนที่มีขนาดเล็กจะไม่ถูกรวมให้ตกตะกอนลงมา ดังนั้นอัตราเร็วในการกวนนมถั่วเหลืองต้องมากพอที่จะรวมเอาโปรตีนโมเลกุลเล็ก ๆ นี้ให้ตกตะกอนรวมเป็นโปรตีนขนาดใหญ่และตกตะกอนลงมา แต่ถ้าใช้อัตราเร็วในการกวนนมถั่วเหลืองมากเกินไป จะไปทำลาย

curd ทำให้ curd มีขนาดเล็ก เวลารวมตัวกันเป็นโครงสร้างจะติดกันแน่น ทำให้มีน้ำแทรกอยู่น้อย และเต้าหู้มีลักษณะเนื้อแน่น แข็งขึ้น

Hou, Chang และ Shin (1997) รายงานว่าอัตราเร็วที่เหมาะสมในการกวนนมถั่วเหลืองขณะเติมแคลเซียมซัลเฟตที่ใช้เป็นตัวตกตะกอนคือ 285 รอบต่อนาที และใช้เวลาในการกวนนมถั่วเหลืองที่เหมาะสมคือ 20 วินาที ซึ่งจะทำให้เต้าหู้อ่อนที่ได้มีคุณภาพทางเนื้อสัมผัสดี การใช้อัตราเร็วในการกวนนมถั่วเหลืองขณะเติมตัวตกตะกอนและการใช้เวลาในการกวนมากเกินไปจะเป็นเหตุให้โครงสร้างเจลโปรตีนของเต้าหู้สูญเสียความสามารถในการกักน้ำ (Water-holding capacity) ระหว่างการกดอัดเพื่อขึ้นรูปก้อนเต้าหู้ เต้าหู้อ่อนที่ได้จึงมีน้ำน้อยลง มีปริมาณ yield ต่ำลง และมีค่าความแข็งมากขึ้น นอกจากนี้เต้าหู้ที่ได้จะมีลักษณะเนื้อหยาบ เป็นเม็ด ทำให้คุณภาพทางเนื้อสัมผัสไม่ดี ส่วนการกวนด้วยอัตราเร็วต่ำเกินไป และใช้เวลากวนน้อยเกินไปเต้าหู้อ่อนจะมีลักษณะนิ่มเกินไป และการกวนด้วยอัตราเร็วที่ต่ำมาก ๆ คือ 135 รอบต่อนาที จะไม่สามารถตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลืองได้

2.4.6 การขึ้นรูปก้อนเต้าหู้และการกำจัด whey ออก

มีวัตถุประสงค์เพื่อให้เจลโปรตีน หรือ curd เกาะติดกัน และมีรูปร่างตามพิมพ์ที่ใช้ ทำให้ก้อนเต้าหู้ที่ได้มีความชื้นลดลง ในการที่จะแยกเอาน้ำ whey ออก จะทำการกดทับพิมพ์ที่มี curd อยู่ในด้วยก้อนน้ำหนัก การกดพิมพ์ด้วยน้ำหนักที่แตกต่างกัน จะทำให้ได้เต้าหู้ที่มีลักษณะแตกต่างกัน โดยทั่วไปเพื่อที่จะผลิตเต้าหู้อ่อน จะกดทับก้อนเต้าหู้ด้วยความดัน 0.026 psi ถึง 0.052 psi ($2-4 \text{ gm/cm}^2$) เป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงกดด้วยความดันมากขึ้นที่ 0.066 ถึง 0.2 psi ($5-15 \text{ gm/cm}^2$) เป็นเวลา 10-15 นาที และเพื่อผลิตเต้าหู้แข็งจะกดด้วยความดัน 0.26 ถึง 1.32 psi ($20-100 \text{ gm/cm}^2$) นาน 20-30 นาที (Shurtleff and Aoyagi, 1979)

Beddows และ Wong (1987) รายงานว่าการกดด้วยน้ำหนัก 5 gm/cm^2 จะทำให้ได้เต้าหู้อ่อนมีเนื้อสัมผัสนุ่มพอเหมาะ การเพิ่มน้ำหนักกดที่มากขึ้นจาก $0-10 \text{ gm/cm}^2$ พบว่าปริมาณเต้าหู้อ่อนจะลดลง และมีน้ำน้อยลง การกดด้วยน้ำหนักน้อยเกินไปจะทำให้ curd เกาะติดกันไม่ดี เต้าหู้มีน้ำมาก และมีเนื้อสัมผัสนิ่มมากเกินไป

2.5 การผลิตเต้านู๋โดยใช้น้ำผลไม้ตระกูลส้มเป็นตัวตกตะกอน

Pontecorvo และ Boume (1978) ได้ทำการทดลองผลิตเต้านู๋โดยใช้น้ำผลไม้ตระกูลส้มหลายชนิดในแถบลาตินอเมริกา ได้แก่ น้ำเลมอน (Lemon) น้ำเกรพฟรุต (Grapefruit) น้ำมะนาว (Lime) และน้ำส้ม (Orange) พบว่าสามารถใช้น้ำผลไม้ตระกูลส้มทั้งหมดนี้ผลิตเป็นเต้านู๋ได้ โดยมีปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ (Titratable acidity, %) คิดในรูปกรดซิตริก และปริมาณที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลือง ดังนี้

- น้ำเลมอน (Lemon) มีปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ 5.08% ปริมาณที่ใช้ตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลือง 197 มิลลิลิตรต่อถั่วเหลือง 1 กิโลกรัม
- น้ำเกรพฟรุต มีปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ 1.16% ปริมาณที่ใช้ตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลือง 807 มิลลิลิตรต่อถั่วเหลือง 1 กิโลกรัม
- น้ำมะนาว (Lime) มีปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ 5.90% ปริมาณที่ใช้ตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลือง 159 มิลลิลิตรต่อถั่วเหลือง 1 กิโลกรัม
- น้ำส้ม มีปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ 0.68% ปริมาณที่ใช้ตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลือง 1376 มิลลิลิตรต่อถั่วเหลือง 1 กิโลกรัม

โดยพบว่าการใช้น้ำส้มและน้ำมะนาว (Lime) จะทำให้เต้านู๋ที่ได้มีรสหวานของน้ำผลไม้ปนมาจึงไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ส่วนการใช้น้ำเกรพฟรุต จะทำให้เต้านู๋มีรสขมจึงไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคในแถบลาตินอเมริกาเช่นกัน

Shurtleff และ Aoyagi (1979) ได้ทำการทดลองและพบว่าสามารถใช้น้ำเลมอน (lemon) ที่ปลูกในประเทศสหรัฐอเมริกาปริมาณ 206 มิลลิลิตร ตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากถั่วเหลืองแห้ง 1 กิโลกรัมได้ โดยใช้อุณหภูมิในการตกตะกอนที่ 90°C

Tajiri (1993) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของเต้านู๋แข็งที่ผลิตโดยใช้น้ำผลไม้ตระกูลส้มในญี่ปุ่น 4 ชนิด ได้แก่ ซุดาจิ (*Citrus sudachi* Hort) ยูสุ (*Citrus junos* Sieb) เลมอน (*Citrus lemon* Burm) และคาโบสุ (*Citrus sphaerocarpa* Hort) เป็นตัวตกตะกอน พบว่าการใช้น้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิดในปริมาณ 3% โดยน้ำหนักของนมถั่วเหลืองสามารถตกตะกอนโปรตีนในนมถั่วเหลืองได้เป็นเต้านู๋แข็งที่มีลักษณะทางกายภาพไม่แตกต่างจากเต้านู๋แข็งที่ผลิตโดยใช้แคลเซียมซัลเฟต 1% โดยน้ำหนักของนมถั่วเหลือง เป็นตัวตกตะกอน โดยน้ำซุดาจิมีปริมาณกรดทั้งหมดที่วิเคราะห์โดยวิธี HPLC เท่ากับ 5.884% น้ำยูสุมีปริมาณกรดทั้งหมด 6.042% น้ำเลมอนมีปริมาณกรดทั้งหมด 5.822% และน้ำคาโบสุมีปริมาณกรดทั้งหมด 4.65%

2.6 ผลไม้ตระกูลส้ม

ผลไม้ตระกูลส้ม (*Citrus spp.*) เป็นพืชที่อยู่ในตระกูล Rutaceae มีหลายชนิด เช่น มะนาว ส้มเขียวหวาน ส้มจีน ส้มตรา ส้มโอ ส้มจุก ส้มจี๊ด ส้มต่าง ๆ เป็นต้น (ทวีศักดิ์ นวลพลับ, 2531) ผลไม้ตระกูลส้มที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ มะนาว ส้มจี๊ด และ ส้มเขียวหวาน

2.6.1 มะนาว

มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus aurantifolia* Swingle ชื่อสามัญ Lime พันธุ์ที่นิยมปลูกในเมืองไทยเพื่อการค้าในปัจจุบัน ได้แก่ มะนาวไซ้ มะนาวหนัง และมะนาวทวาย โดยเฉพาะมะนาวทวายพันธุ์แม่ไก่ไข่ดก พันธุ์แป้นรำไพ และพันธุ์แป้นทวาย เนื่องจากให้ผลดกและออกผลสม่ำเสมอตลอดปี เหมาะสำหรับปลูกเพื่อการค้าและเป็นไม้ประดับบ้าน ส่วนมะนาวไซ้มีเปลือกบาง เหมาะสำหรับทำมะนาวดอง สำหรับมะนาวหนัง มีเปลือกหนากว่ามะนาวไซ้ แต่มีน้ำมาก มีกลิ่นหอม ใช้ทำน้ำมะนาวคั้นได้ดีมาก ช่วงฤดูที่ให้ผลผลิตออกสู่ตลาดมากที่สุดคือ ช่วงฤดูฝนหรือในราวเดือนมิถุนายนถึงตุลาคม ระยะเวลาตั้งแต่ออกดอกจนถึงผลแก่เก็บเกี่ยวได้จะใช้เวลาประมาณ 5-6 เดือน (อัญชลี รัตนวิจิตร, 2531)

2.6.2 ส้มจี๊ด

มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus mitis* Blanco ต้นเป็นพุ่มขนาดเล็ก ผลมีขนาดเล็กมาก นิยมปลูกเป็นไม้ประดับ ผิวเปลือกผลมีลักษณะเรียบ ก่อนข้างหนา เปลือกมีรสหวาน และกลิ่นหอม ขณะผลสุกมีสีเหลือง มีรสชาติเปรี้ยว ช่วงฤดูที่ปลูกจะอยู่ในช่วงฤดูฝน ตั้งแต่เดือน กรกฎาคม จนถึงเดือนตุลาคม ระยะเวลาตั้งแต่ออกดอกจนถึงผลแก่เก็บเกี่ยวได้จะใช้เวลาประมาณ 4 เดือน (วิจิตร วังโน, 2526)

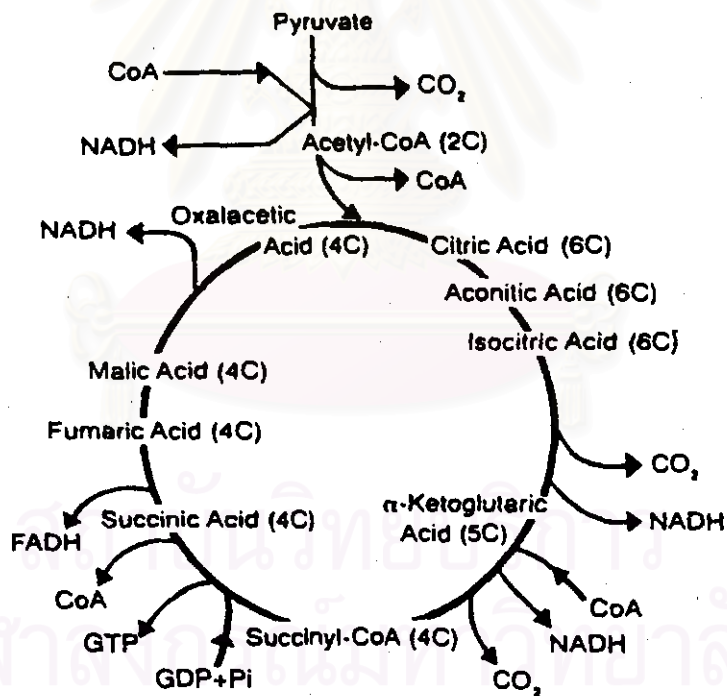
2.6.3 ส้มเขียวหวาน

มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus reticulata* Blanco มีชื่อสามัญว่า Mandarin หรือ Tangerine พันธุ์ที่นิยมปลูกคือ พันธุ์บางมด ผลมีทรงกลม แป้นเล็กน้อย มีตุ่มน้ำมันเกิดที่เต็มผิวเปลือกบาง ล่อน ปอกง่าย ผิวเรียบ ผลแก่จัดผิวจะมีสีเขียวอมเหลือง สีผิวสม่ำเสมอ ในผลหนึ่ง ๆ มีประมาณ 11 กลีบแยกจากกันง่าย ผนังกลีบบาง juice sac มีขนาดสั้น ฉ่ำน้ำ มีรสชาติหวานอม

เปรี้ยว ระยะเวลาตั้งแต่ออกดอกจนถึงผลแก่เก็บเกี่ยวได้จะใช้เวลาประมาณ 8-10 เดือน (ทวีศักดิ์ นวลพลับ, 2531)

2.6.4 กรดอินทรีย์ในน้ำผลไม้ตระกูลส้ม

กรดอินทรีย์เป็นตัวบ่งชี้ถึงความแก่-อ่อนที่สำคัญของผลไม้ ในผลไม้ตระกูลส้มจะมีกรดอินทรีย์มาก และปริมาณค่อนข้างจะคงที่หลังจากแก่จัดหรือสุก ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงภายในของผลไม้ตระกูลส้มเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ กรดอินทรีย์ในผลไม้ตระกูลส้มจะถูกสร้างจาก Citric acid cycle หรือ Krebs cycle หรือ Tricarboxylic acid cycle ซึ่งเกิดขึ้นในไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) ของ Juice cell โดยจะเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตที่สะสมไว้ให้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และกรดอินทรีย์ต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 2.4



รูปที่ 2.4 Krebs หรือ Citric acid cycle ซึ่งเกิดขึ้นในไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) ของ

Juice cell

ที่มา: Kimball (1991)

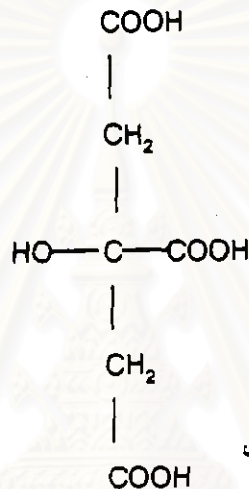
จากรูป 2.4 จะเห็นได้ว่ากรดซิตริกเป็นกรดชนิดแรกที่ถูกสร้างขึ้น โดยเมื่อมันถูกสร้างขึ้นในไมโทคอนเดรียแล้วบางส่วนก็จะแพร่ออกมาที่แวคิวโอล (vacuole) ก่อนที่จะถูกเปลี่ยนแปลงต่อไป ต่อมาเอนไซม์อะโคนิเทส (Aconitase enzyme) จะเปลี่ยนกรดซิตริกไปเป็นกรดอะโคนิติก (Aconitic acid) ซึ่งในช่วงแรกของการเจริญของผลไม้เอนไซม์ตัวนี้จะยังไม่มียับยั้ง นั่นคือทำให้เกิดการสะสมของกรดซิตริกในผลไม้ ต่อมาเมื่อผลไม้เจริญขึ้นเอนไซม์อะโคนิเทสจะเริ่มมีบทบาทมากขึ้น เกิดการเปลี่ยนแปลงกรดซิตริกในวงจร (Cycle) เพื่อให้มีพลังงานสำหรับการเจริญเติบโตของผล ซึ่งเป็นผลทำให้การสะสมกรดซิตริกเกิดช้าลงจนหยุดไป อย่างไรก็ตามยังมีการสะสมคาร์โบไฮเดรตและน้ำในแวคิวโอล ทำให้ความเข้มข้นของกรดเจือจางลง รสเปรี้ยวของผลที่สุกจึงลดลง (Kimball, 1991)

กรดอินทรีย์หลักที่พบในน้ำผลไม้ตระกูลส้มคือ กรดซิตริก (Citric acid) คือจะพบประมาณ 80-90% ของปริมาณกรดทั้งหมด และที่พบรองลงมาคือกรดแอสมาลิก (L-malic acid) คือจะพบประมาณ 10% ของปริมาณกรดทั้งหมด (Scurti and De Plato, 1908; Nelson, 1927; Hartman and Hillig, 1934, quoted in Nagy, Shaw and Veldhuis, 1977) นอกจากนี้ยังพบกรดชนิดอื่นอีกในปริมาณเล็กน้อย ตัวอย่างของกรดที่พบในน้ำผลไม้ตระกูลส้มชนิดต่าง ๆ เช่น ในน้ำส้มเขียวหวาน (Tangerine) จะพบกรดซิตริก กรดมาลิก กรดออกซาลิก (Oxalic acid) กรดซักซินิก (Succinic acid) (Kubota, Fukui and Anao, 1972, quoted in Nagy, Shaw and Veldhuis, 1977) และในน้ำมะนาว (Lime) จะพบกรดซิตริก กรดมาลิก และกรดซักซินิก (Fernandez-Flores, Kline and Johnson, 1970) เป็นต้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.6.5 สมบัติทางเคมีของกรดซิตริก

กรดซิตริกมีสูตรอย่างง่ายคือ $C_6H_8O_7$ มีน้ำหนักโมเลกุล 192.12 ดาลตัน ละลายได้ดีในน้ำ สามารถละลายได้ 181 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ให้พลังงาน 2.47 กิโลแคลอรีต่อกรัม มีค่าคงที่ของการแตกตัวของกรด (Acid dissociation constant, K_a) 3 ค่า คือ K_1 , 8.2×10^{-4} , K_2 , 1.77×10^{-5} และ K_3 , 3.9×10^{-6} (Hui, 1992) มีสูตรโครงสร้างดังนี้



2.6.6 สมบัติทางเคมีของกรดมาลิก

กรดมาลิกมีสูตรอย่างง่ายคือ $C_4H_6O_5$ มีน้ำหนักโมเลกุล 134.09 ดาลตัน ละลายได้ดีในน้ำ สามารถละลายได้ 144 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ให้พลังงาน 2.39 กิโลแคลอรีต่อกรัม มีค่าคงที่ของการแตกตัวของกรด (Acid dissociation constant, K_a) 2 ค่า คือ K_1 , 4.0×10^{-4} และ K_2 , 9.0×10^{-6} (Hui, 1992) มีสูตรโครงสร้างดังนี้

